

بررسی تأثیر تزریق داخل نخاعی سلول‌های شوان در ایجاد دردهای نوروپاتیک در مدل تجربی ضایعه نخاعی

دکتر باقر پورحیدر^۱، دکتر محمد تقی جغتایی^۲، دکتر نوروز نجف زاده^۳

تاریخ دریافت ۱۳۹۰/۰۸/۱۵ تاریخ پذیرش ۱۳۹۰/۱۰/۳۰

چکیده

پیش زمینه و هدف: ضایعه نخاعی (SCI) موجب اختلال حسی حرکتی و ایجاد دردهای نوروپاتیک می‌گردد. سلول‌های شوانی از روش‌های متداول برای درمان SCI می‌باشد. محققان معتقدند که پیوند سلول‌های بنیادی سبب تمایز این سلول‌ها به آستروسیت‌ها و ترشح فاکتور NGF می‌شود. این فاکتور موجب جوانه زدن آکسونی در نورون‌های شاخ خلفی شده که خود منجر به دردهای نوروپاتیک می‌گردد. چون سلول‌های شوان کاربرد فراوانی در سلول درمانی دارد لذا بر آن شدیم تا تأثیر تزریق داخل نخاعی این سلول را در ایجاد درد نوروپاتیک بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از ۲۴ رت از نژاد ویستار استفاده شد. سلول‌های شوان کشت شدند و پس از ایجاد مدل ضایعه نخاعی، موش‌ها به گروه‌های کنترل، شم و آزمایش تقسیم شدند. در گروه کنترل تنها لامینکتومی انجام گرفت در گروه آزمایش سلول‌های شوان در محل ضایعه تزریق شد در گروه شم تنها سرم تزریق گردید. بررسی وضعیت حرکتی حیوان‌ها با تست BBB و ارزیابی درد نوروپاتیک با تست withdrawal threshold انجام شد.

یافته‌ها: افزایش معنی‌داری در نمرات BBB حیوانات گروه آزمایش در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل دیده شد ($P < 0.05$) و نیز اختلاف معنی‌داری در میزان withdrawal threshold mean بین گروهی آزمایش و شم مشاهده گردید ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان داد که پیوند سلول‌های شوان برای درمان SCI سبب بهبود حرکتی و ایجاد دردهای نوروپاتیک می‌گردد لذا ضروری است در مطالعات آینده روش‌های کاستن دردهای نوروپاتیک بررسی شود.

کلید واژه‌ها: سلول شوان، ضایعه نخاعی، درد نوروپاتیک

دوماهنامه دانشکده پرستاری و مامایی ارومیه، دوره دهم، شماره دوم، پی در پی ۳۷، خرداد و تیر ۱۳۹۱، ص ۱۷۴-۱۶۵

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی، گروه آناتومی؛ تلفن: ۰۹۱۴۴۴۶۲۱۶۵
Email: bpourheydar@yahoo.com

مقدمه

که در حالت معمولی غیر دردناک می‌باشند موجب ایجاد درد می‌شوند. مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان داده‌اند که بالغ بر ۶۴ درصد بیماران ضایعه نخاعی از سندرم‌های درد مزمن رنج می‌برند (۳). آلودینیا تأثیرات فیزیکی و پسیکولوژیکی مختلفی را بر روی بیماران گذاشته و موجب اختلال در کیفیت زندگی (۴) آن‌ها شده و نیز موجب می‌شود که این بیماران توانایی کم‌تری برای کار کردن داشته باشند. به طور کلی محققان دو مکانیسم

ضایعه نخاعی (SCI) یکی از ناتوان کننده ترین ضایعات محسوب می‌شود که موجب آسیب بافت عصبی و ضایعات حسی- حرکتی و نیز منجر به از بین رفتن کنترل سیستم عصبی اتونوم بر نواحی پایین تر از محل ضایعه می‌گردد (۱) همچنین ضایعات نخاعی موجب ایجاد دردهای مزمن مانند آلودینیا می‌گردد (۲) آلودینیا یک سندرم درد غیر طبیعی می‌باشد که در آن تحریکاتی

^۱ استادیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

^۲ استاد گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۳ استادیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

مواد و روش‌ها

حیوانات:

در این مطالعه از موش‌های صحرایی ماده نژاد ویستار ($n = 24$) به وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم (تهیه شده از انستیتو پاستور تهران) استفاده شده است. تمام مراحل این مطالعه توسط کمیته اخلاقی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران از نظر اصول نگهداری حیوانات آزمایشگاهی مورد تایید قرار گرفته است. حیوانات در قفس‌های استاندارد نگهداری می‌شدند. اتاق نگهداری دارای نور و حرارت کافی بود. درجه حرارت اتاق در محدوده ۳۷ درجه سانتی‌گراد حفظ می‌شد و آب و غذای کافی برای حیوانات به صورت آزاد وجود داشت.

کشت سلول‌های شوان: سلول‌های شوان از عصب سیاتیک رت‌های بالغ ماده نژاد ویستار با سن (۱۰ هفته) و با وزن (۳۰۰-۲۵۰) گرم طبق روش Morrissey و همکاران (۱۲) تهیه شده و سپس در محیط کشت DMEM کشت داده شدند و حدود چهار بار پاساژ داده شدند.

خالص سازی سلول‌های شوان: برای حذف فیبروبلاست‌ها از جمعیت سلول‌های شوان، این سلول‌ها با (Ara-c) انکو به شدند (۱۳، ۱۴).

تشدید تزید سلول‌های شوان: برای تشدید تزید این سلول‌ها از Forskolin (sigma) استفاده شد (۱۳).

نشان‌دار کردن سلول‌های شوان: برای نشان‌دار کردن سلول‌های شوان قبل از پیوند از (Sigma) (DiI) استفاده شد (۱۵). مدل ضایعه نخاعی: برای ایجاد ضایعه نخاعی از روش contusion و دستگاه (NYU) استفاده شد به این ترتیب که لامینکتومی در سطح T₈₋₉ طناب نخاعی انجام شد. محل ضایعه نخاعی باز شد و یک استوانه فلزی ۱۰ گرمی و به قطر ۲ میلی‌متری از ارتفاع ۱۲/۵ میلی‌متری بر روی این ناحیه انداخته

اصلی را برای ایجاد آلودینیا توضیح می‌دهند: مکانیسم اول شامل این هیپوتز می‌شود که بعد از ضایعه نخاعی تون مهاری در نخاع کاهش یافته و یا از بین می‌رود. در شرایط طبیعی نوروترانسمیتر GABA که توسط اینترنورون‌های موجود در ماده خاکستری شاخ خلفی نخاع آزاد می‌شود- انتقال سیناپسی ایمپالس‌های درد را تعدیل می‌کنند (۵) ولی بعد از ضایعه نخاعی مقدار فراوانی از اینترنورون‌های GABAergic شاخ خلفی از بین می‌روند (۶) که این امر موجب از بین رفتن تون مهاری در شاخ خلفی شده که خود سبب تسهیل انتقال ایمپالس‌های تحریکی به لایه‌های سطحی شاخ خلفی نخاع (لامیناهای I تا III که با ادراک درد در ارتباط می‌باشند) می‌گردد (۷).

مکانیسم دومی که محققین برای آلودینیا شرح می‌دهند عبارت است از این‌که: سلول‌های بنیادی مانند سلول‌های بنیادی عصبی- هنگامی که به داخل نخاع ضایعه دیده پیوند می‌شوند ازدیاد حاصل کرده و به سلول‌های گلیال (عمدتاً آستروسیت‌ها) متمایز می‌شوند (۸-۹) که سلول‌های اخیر فاکتور رشد عصبی (NGF) را تولید می‌کنند (۱۰). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که NGF موجب جوانه زدن آکسونی غیر طبیعی در نورون‌های لامیناهای I تا III شاخ خلفی نخاع که با ادراک درد در ارتباط می‌باشد، شده که خود به ایجاد آلودینیا منجر می‌شود (۱۱).

بررسی‌های متعدد نشان می‌دهد که پیوند سلول‌های بنیادی به داخل نخاع ضایعه دیده موش‌های صحرایی موجب بهبود حرکتی در این حیوانات می‌شود. از آنجا که امروزه استفاده از سلول‌های شوان (SCs) در مطالعات سلول درمانی برای درمان ضایعات نخاعی کاربرد وسیعی پیدا کرده است لذا ما بر آن شدیم تا بررسی کنیم که آیا پیوند این سلول‌ها در نخاع آسیب دیده می‌تواند موجب بهبود عملکرد شده و نیز قادر است موجب کاهش آلودینیا گردد؟

شد. بعد از جراحی محل زخم بسته شده و مراقبت‌های بعد از عمل به مدت یک هفته انجام شد.

مطالعه بافت شناسی: چهار هفته بعد از ضایعه نخاعی تعداد چهار حیوان عمیقاً بیهوش شدند و پرفیوژن توسط پارافرمالدئید ۴درصد انجام گرفت. بافت‌ها یک شبانه روز در داخل سوکرز ۳۰درصد انکوبه شدند. یک قطعه ۱/۵ سانتی‌متری از نخاع که شامل محل ضایعه می‌شد جدا گردید و برش‌های عرضی ۸ میکرومتری به صورت سریال تهیه شد. این مقاطع برای مطالعه ریخت شناسی با رنگ کرزیل ویوله رنگ آمیزی شدند.

پروسه پیوند سلولی: موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به سه گروه کنترل ($n=8$) و شم ($n=8$) و آزمایش ($n=8$) تقسیم شدند. در گروه کنترل تنها لامینکتومی صورت گرفت. در گروه شم تنها سرم به صورت داخل نخاعی تزریق شد. در گروه آزمایش (گروه SC) تعداد (3×10^5) سلول شوان در محل ضایعه و هفت روز پس از آسیب نخاعی تزریق شد. سوسپانسیون سلول‌های شوان با غلظت ۳۰۰۰۰ سلول دریک میکرولیتر تهیه شد. هفت روز پس از ضایعه نخاعی موش‌ها توسط مواد بی حس کننده بیهوش شدند و محل ضایعه دوباره باز شد و پیوند سلولی طبق مراحل زیر صورت گرفت: ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلولی توسط یک سرنگ هامپلتون به آرامی و در مدت دو دقیقه در فواصل یک میلی‌متری محل ضایعه تزریق شد. قبل از هر جلسه پیوند سلولی یک نمونه از سلول‌های شوان از سرنگ هامپلتون بر روی یک لایم نئوبار ریخته شد و با تریپان به لو رنگ آمیزی شدو درصد سلول‌های زنده تعیین گردید.

بررسی رفتاری (عملکرد حرکتی): ارزیابی وضعیت حرکتی با استفاده از تست open-field walking test انجام شد. در این تست توانایی حرکتی حیوان در عرض ۵ دقیقه سنجیده می‌شود. به حیوان اجازه داده می‌شود که آزادانه حرکت کند. دو آزمایش

کننده مستقل حرکات اندام‌های خلفی موش را مشاهده کرده و بر اساس مقیاس BBB نمره گذاری می‌کنند.

در مقیاس BBB به حیوان نمرات از صفر تا ۲۰ داده می‌شود که نمره صفر نشان دهنده فلج کامل و نمره ۲۱ نشان دهنده راه رفتن طبیعی می‌باشد. نمره نهایی حیوان میانگین نمرات هر دو آزمایش کننده خواهد بود. در طول تست راه رفتن حیوان توسط یک دوربین دیجیتال فیلم برداری می‌شود. بررسی وضعیت حرکتی قبل از ضایعه و پیوند سلولی و نیز هر هفته و به مدت هشت هفته بعد از پیوند سلولی انجام شد

بررسی رفتاری (مکانیکال آلودینیا): برای بررسی حساسیت مکانیکی در کف اندام‌های خلفی موش‌ها از ابزاری به نام von frey filaments استفاده شد. این بررسی قبل از پیوند سلولی و بعد از آن هر هفته و به مدت هشت هفته انجام شد. (جزئیات انجام تست توسط آقای pitcher و همکاران در سال ۱۹۹۹ شرح داده شده است) (۱۶). این تست به نام withdrawal threshold hair test نامیده می‌شود که توسط دو فرد آزمایش کننده انجام می‌گیرد. سکویی که‌اتست بر روی آن انجام می‌شود از یک جعبه پلاستیکی تشکیل شده است. این جعبه حاوی سوراخ‌هایی به قطر ۱/۵ میلی‌متر می‌باشد که از طریق این سوراخ‌ها فیلامان‌های با کف پای حیوان تماس پیدا می‌کند. مقدار نیرویی که این فیلامان‌ها بر پای حیوان وارد می‌کنند بین ۰/۰۸ تا ۳۰۰ گرم می‌باشد.

جهت عادت کردن حیوان به محیط آزمایش قبل از انجام تست حیوان‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در جعبه آزمایش قرار داده می‌شوند. همه چهار پای حیوان بایستی در تماس با سکو باشد. هر کدام از فیلامان‌ها در یک جهت صعودی برای تحریک کف پای حیوان بکار برده می‌شوند و تنها برداشته شدن کامل پای حیوان از سکو به عنوان پاسخ مثبت تلقی می‌شود. تست ۵ بار و با فواصل ۵ ثانیه‌ای انجام می‌شود. مقدار نیرویی را که این فیلامان‌ها بر پای حیوان وارد کرده و موجب ایجاد درد و در نتیجه برداشته شدن آن

می‌شود بر حسب گرم بر روی فیلامان‌ها نوشته شده است که در واقع آستانه تحریکی درد را برای پای حیوان تعیین می‌کند.

/ایمونوهیستوشیمی: هشت هفته پس از پیوند سلولی حیوان‌ها عمیقاً بیهوش شدند و پرفیوژن ترانس کاردیال توسط پارافرمالدئید ۴ درصد انجام شد. بافت‌ها به مدت یک شب در داخل سوکرز ۳۰ درصد انکوبه شدند و یک قطعه یک سانتی متری نخاع از محل ضایعه برداشته شد و سکشن‌های سریال ۸ میکرومتری تهیه گردید.

/ایمونوهیستوشیمی S-100: به منظور شناسایی سلول‌های شوان ایمونوهیستوشیمی S-100 انجام شد به طور خلاصه سکشن‌ها پس از مراحل اولیه شستشو با PBS به مدت یک شب

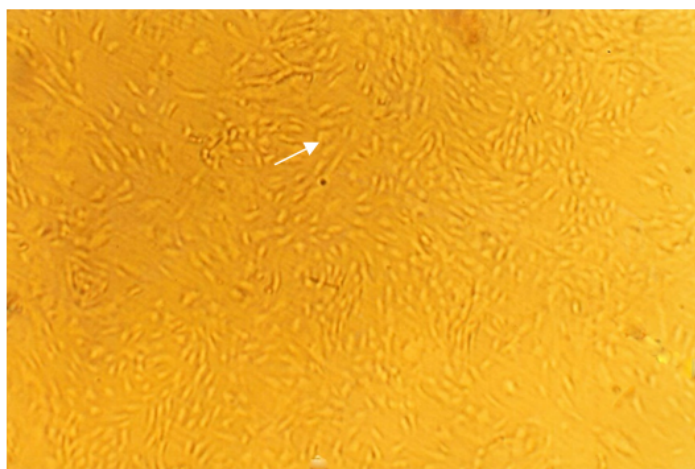
در آنتی‌بادی اولیه بر علیه S-100 انکوبه شدند. سپس به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی با آنتی بادی ثانویه (FITC) انکوبه شدند و در زیر میکروسکوپ فلوئور سنت مورد مطالعه قرار گرفتند.

آنالیز آماری:

مقایسه آماری بین گروه‌ها با استفاده از ANOVA و Tukey test انجام شد. $P < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار تلقی شد و تمامی داده‌ها به صورت $(Mean \pm SD)$ ارائه شد.

یافته‌ها

کشت سلولی: سلول‌های شوان در محیط کشت DMEM کشت داده شدند و ۴ بار پاساژ داده شدند (شکل ۱).

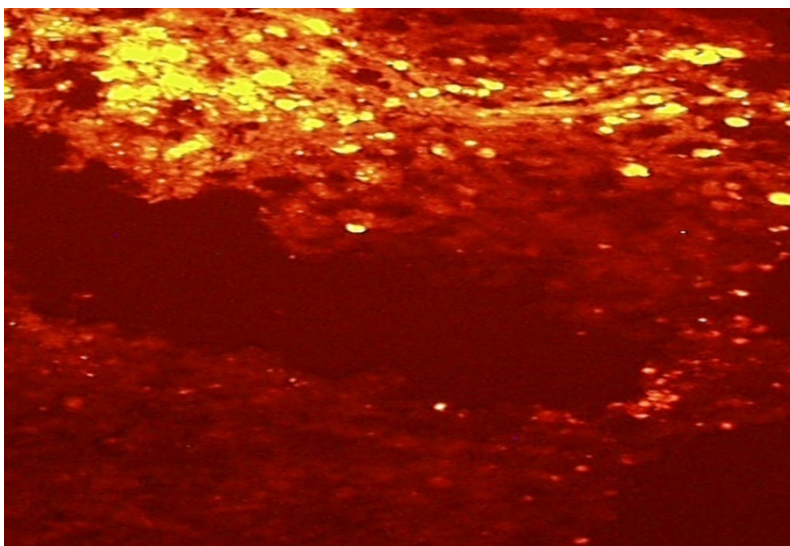


شکل شماره (۱): این شکل کشت سلول‌های شوان را در مرحله پاساژ سوم را نشان می‌دهد. برای خالص سازی سلول‌های شوان و حذف

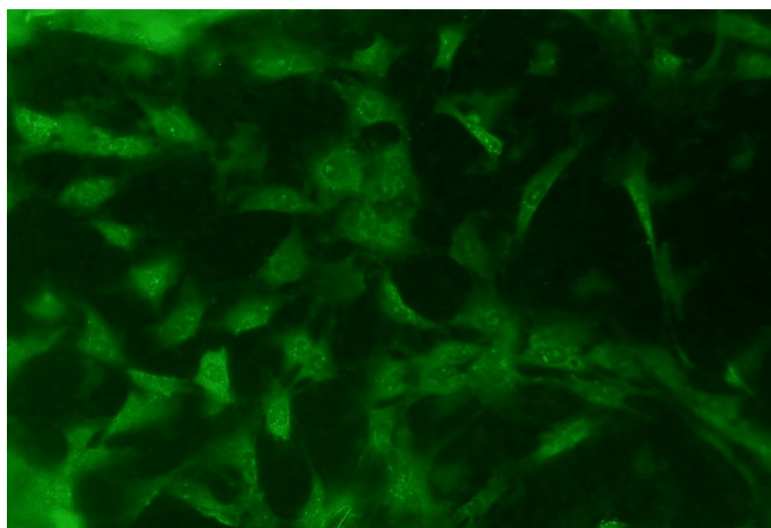
جمعیت فیبروبلاست‌ها از Ara-C استفاده شد (عکس‌برداری از میکروسکوپ Olympus 1X70).

یافته‌های ایمونوهیستوشیمی نشان داد که هشت هفته بعد از پیوند سلول‌های شوان پیوند شده زنده مانده و در محل ضایعه حضور یافتند. مشاهده با میکروسکوپ فلوئورسنت نشان داد که سلول‌های شوان که در محل ضایعه پیوند شدند DiI positive بوده و هشت هفته پس از پیوند زنده مانده و در اطراف محل ضایعه تجمع کردند (شکل ۲).

یافته‌های بافت شناسی: چهار هفته پس از ضایعه نخاعی مشاهده نمونه‌هایی که با کرزیل و یوله رنگ‌آمیزی شده بود نشان داد که تعدادی واکوئل و حفره کیستی با اندازه‌های مختلف در محل ضایعه ایجاد شده است. تشکیل کیست حاکی از مرگ نورون‌ها و اینتر نورون‌ها و سلول‌های گلیال بعد از ضایعه نخاعی می‌باشد. یافته‌های ایمونوهیستوشیمی: یافته‌های ایمونوهیستوشیمی وجود سلول‌های پیوند شده را در محل ضایعه تایید کرد به عبارت دیگر



شکل شماره (۲): مقطع عرضی از محل ضایعه ۸ هفته پس از پیوند سلول‌های شوان- فلاش سلول‌های DiI-positive SC را نشان می‌دهد که هشت هفته پس از پیوند زنده مانده‌اند و در اطراف محل ضایعه مستقر شده‌اند - ستاره محل ضایعه را نشان می‌دهد (مشاهده با میکروسکوپ فلوئورسنت Olympus AX70).



شکل شماره (۳): ایمونوهیستوشیمی S-100. سلول‌های شوان پس از کشت بر روی لامل توسط آنتی بادی اولیه S-100 انکوبه شدند - پس از رنگ آمیزی با آنتی بادی ثانویه توسط میکروسکوپ فلوئورسنت Olympus AX70 مشاهده شدند. دوکی شکل بودن این سلول‌ها و هسته‌های آن‌ها و واکنش با S-100 ماهیت شوان بودن این سلول‌ها را تایید می‌کند.

بودند کاهش قابل ملاحظه‌ای را در اعمال حرکتی اندام‌های خلفی از خود نشان دادند تا جایی که فلج کامل پیدا کرده و هیچ حرکتی در آن‌ها مشاهده نشد و نمره BBB آن‌ها بین صفر تا یک بود.

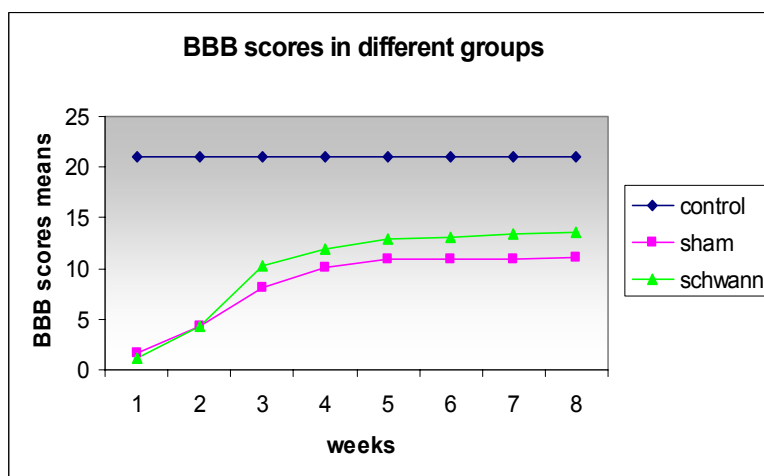
نتایج بررسی رفتاری (عملکرد حرکتی): به طور کلی قبل از ضایعه نخاعی حیوانات تمام گروه‌ها نمره BBB - ۲۱ از خود نشان دادند. یک روز پس از ضایعه حیواناتی که ضایعه نخاعی دریافت کرده

در گام برداشتن و هماهنگی اندام‌های قدامی و خلفی در طی راه رفتن را کسب کردند در حالی که رت‌های گروه شم فاقد این پیشرفت‌ها بودند. حیوان‌های گروه کنترل در طول تمام مراحل تحقیق دارای نمره BBB - ۲۱ بودند

در هفته هشتم میانگین نمره BBB در حیوان‌های گروه شم و شوان به ترتیب به مقادیر زیر رسید: $(11/12 \pm 1/12)$ و $(13/5 \pm 1/06)$. تجزیه و تحلیل آماری نشان می‌دهد که از نظر میانگین نمره BBB یک اختلاف معنی‌دار مهمی بین گروه‌های شوان و شم وجود دارد ($P < 0.05$).

در روزهای بعد نمره BBB تمامی گروه‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت به عنوان مثال در روز ۱۴ بعد از ضایعه نخاعی نمره BBB بر حسب $(mean \pm SD)$ در گروه شم به $(8/12 \pm 1/12)$ و در گروه شوان به $(10/25 \pm 1/28)$ رسید. از هفته ۳ تا ۸ حیوان‌های گروه شوان در مقایسه با حیوان‌های گروه شم افزایش پیش رونده‌ای را در حرکات اندام خلفی از خود نشان دادند ($p < 0.05$) (نمودار ۱).

در هفته‌های هفتم و هشتم در رت‌های گروه شوان در مقایسه با رت‌های گروه شم به طور معنی‌داری مهارت‌های راه رفتن پیشرفت پیدا کرد علاوه بر این رت‌های گروه شوان پایداری لازم را



نمودار شماره ۱): نمودار ارزیابی عمل حرکتی با استفاده از تست BBB هشت هفته پس از پیوند به صورت هفتگی در تمامی گروه‌ها

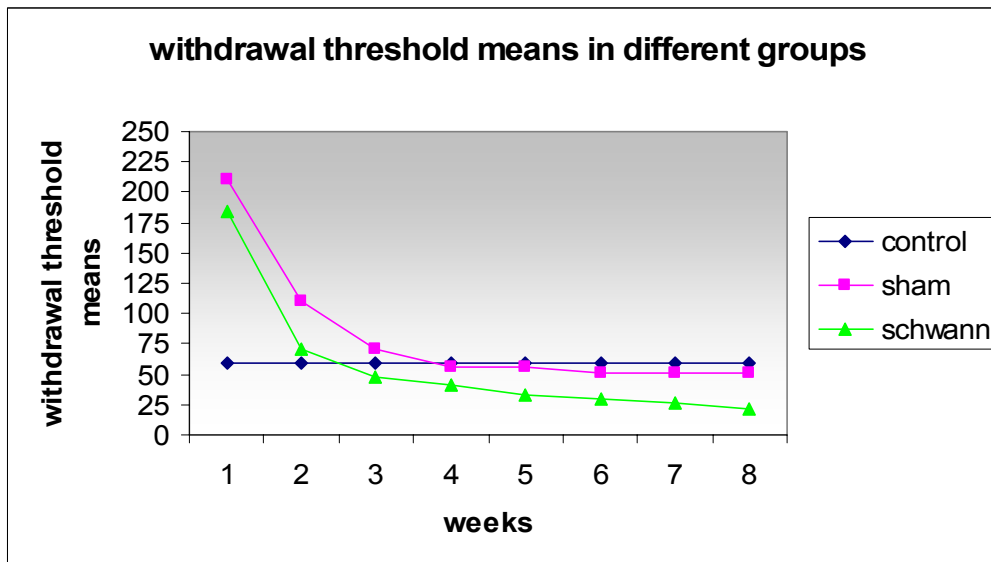
در هفته‌های چهارم و پنجم برابر با $(55/75 \pm 4/25)$ گرم و در هفته‌های ششم و هفتم و هشتم برابر $(51/5 \pm 5/56)$ گرم بود. در پایان هفته هشتم اختلاف این گروه با گروه‌های شوان و کنترل معنی‌دار بود ($p < 0.05$).

میانگین پاسخ درد حیوانات به تحریک پنجه خلفی در گروه شوان در هفته اول برابر $(185 \pm 19/18)$ گرم، در هفته دوم برابر $(70/75 \pm 9/47)$ گرم، در هفته سوم برابر $(47/25 \pm 6/22)$ گرم، در هفته چهارم برابر $(41/63 \pm 7/06)$ گرم، در هفته پنجم برابر $(33/13 \pm 6/01)$ گرم، در هفته ششم برابر $(30/38 \pm 6/71)$ گرم

نتایج بررسی رفتاری (آلوداینیای مکانیکی): Von Frey hair test به منظور ارزیابی آلوداینیای مکانیکی هر هفته و به مدت هشت هفته در تمام گروه‌های مورد مطالعه انجام گرفت و نتایج زیر بدست آمد: (نمودار ۲). میانگین پاسخ درد حیوانات به تحریک پنجه خلفی در گروه کنترل در تمام طول هشت هفته ثابت و برابر با (60 ± 0) گرم بود.

میانگین پاسخ درد حیوانات به تحریک پنجه خلفی در گروه شم در هفته اول برابر با $(210 \pm 19/64)$ گرم - در هفته دوم برابر با (110 ± 10) گرم - در هفته سوم برابر با $(70 \pm 6/54)$ گرم -

گرم، در هفته هفتم برابر $(26/13 \pm 5/20)$ گرم و در هفته هشتم برابر با $(20/63 \pm 5/62)$ گرم بود. در پایان هفته هشتم اختلاف معنی‌داری بین این گروه و گروه‌های کنترل و شام مشاهده شد $(p < 0/05)$.



نمودار شماره (۲): مقایسه میانگین پاسخ درد حیوانات به تحریک پنجه خلفی در گروه‌های مورد بررسی در پایان هفته‌های اول تا هشتم پس از ضایعه بر اساس عمل پس کشیدن اندام خلفی (withdrawal threshold) بر حسب گرم

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که پیوند سلول‌های شوان به داخل نخاع آسیب دیده سبب بهبود عملکرد حرکتی و نیز موجب ایجاد آلوداینیای مکانیکی می‌گردد به عبارت دیگر هر چند پیوند سلول‌های شوان موجب بهبود حرکتی می‌شود ولی از طرف دیگر منجر به ایجاد حس نامطلوبی به نام مکانیکال آلوداینیا می‌گردد.

یافته‌های بافت شناسی این مطالعه تایید کرد که حیوانات گروه آزمایش یک ضایعه نخاعی را متحمل شده‌اند. سلول‌های شوان کشت داده شدند (شکل ۱) و توسط DiI نشاندار گردیدند. یافته‌های ایمونوهیستوشیمی نشان داد که بعد از هشت هفته سلول‌های شوان زنده ماندند و در اطراف محل ضایعه تجمع پیدا کردند (شکل ۲).

نتایج ارزیابی رفتاری (عملکرد حرکتی) نشان داد که پیوند سلول‌های شوان در مدل تجربی ضایعه نخاعی می‌تواند موجب بهبود حرکتی معنی‌داری گشته و پیوند این سلول‌ها می‌تواند روش

درمانی موثری را برای ضایعات نخاعی فراهم آورد. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پیوند سلول‌های شوان به داخل نخاع ضایعه دیده موجب ایجاد یک حالت نامطلوبی به نام مکانیکال آلوداینیا می‌شود. ضایعه نخاعی اغلب منجر به ایجاد یک درد نوروپاتیک ناتوان کننده‌ای بنام آلوداینیا می‌شود. آلوداینیا در تعریف عبارت است از یک حساسیت افزایش یافته در پاسخ به محرک‌هایی است که در حالت نرمال غیر دردناک می‌باشند (۱۷) به عبارت دیگر آلوداینیا پاسخ دردناک به یک محرک غیر دردناک می‌باشد.

محققان مکانیسم‌های مختلفی را برای ایجاد آلوداینیا شرح داده‌اند به عنوان مثال مطالعه آقای Seung و همکاران نشان داد که کاهش گیرنده‌های μ -opioid در نخاع به دنبال ضایعه اعصاب محیطی با مکانیکال آلوداینیا در ارتباط می‌باشد (۱۸).

مطالعه آقای Mukhida و همکاران نشان داد که به دنبال ضایعه نخاعی مقدار فراوانی از اینترنورون‌های GABAergic در

شاخ خلفی نخاع از بین رفته و این موجب تسهیل انتقال ایمپالس‌های تحریکی در شاخ خلفی شده که خود منجر به ایجاد آلوداینیا می‌شود. این محققان اضافه کردند که پیوند داخل نخاعی سلول‌های GABAergic می‌تواند موجب کاهش مکانیکال آلوداینیا شود (۱۹).

Ledeboer و همکاران در مقاله خود اظهار داشتند که ضایعه نخاعی یا تروما سبب فعال شدن سلول‌های گلیال (میکروگلیا و آستروسیت) شده و این سلول‌های فعال شده سیتوکین‌های پیش التهابی و سایر مدیاتورها را آزاد می‌کنند که این خود موجب تسهیل انتقال ایمپالس‌های درد شده و در نهایت منجر به تولید آلوداینیا می‌شود (۲۰).

Hofstetter و همکاران سلول‌های بنیادی عصبی را به داخل نخاع آسیب دیده رت تزریق کردند و گزارش کردند که این سلول‌ها تزیید پیدا کرده و به سلول‌های گلیال (عمدتاً آستروسیت‌ها) تمایز پیدا کردند که سلول‌های اخیر نیز فاکتور رشد عصبی (NGF) را آزاد نمودند. این فاکتور موجب جوانه زدن آکسونی غیر عادی در نورون‌های لامینای I تا III شاخ خلفی نخاع که با دریافت حس درد در ارتباطند گشته و این خود موجب ایجاد آلوداینیا می‌شود (۱۱).

Macias و همکاران سلول‌های بنیادی عصبی را به رت‌های مبتلا به ضایعه نخاعی پیوند کردند که موجب بروز آلوداینیا در اندام‌های حیوان‌ها شد. همچنین این گروه با مهندسی ژنتیک سلول‌های بنیادی عصبی را طوری اصلاح کردند که آن‌ها فاکتور GDNF را بیان کنند و سپس این سلول‌ها را به رت‌های مبتلا به ضایعه نخاعی تزریق کردند و مشاهده نمودند که آلوداینیای مکانیکی کاهش یافت و نتیجه گرفتند که پیوند سلول‌های بنیادی عصبی موجب ایجاد آلوداینیا شده و این که GDNF نقش مهمی را در کاهش آلوداینیا ایفا می‌کند (۲۱).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پیوند سلول‌های شوان به داخل نخاع آسیب دیده موش صحرایی به طور معنی‌داری میانگین پاسخ درد به تحریک پنجه اندام خلفی^۱ را در مقایسه با حیوانات گروه شم که هیچ سلولی را دریافت نکرده بودند کاهش داد ($p < 0.05$) (شکل A,B,C-۵). به عبارت دیگر پیوند این سلول‌ها سبب ایجاد آلوداینیای مکانیکی شد.

نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات Hofstetter و همکاران (۲۰۰۵) (۱۱) و Macias و همکاران (۲۰۰۶) (۲۱) مشابه است این نتایج نشان می‌دهد که پیوند سلول‌های شوان به داخل نخاع ضایعه دیده موجب ایجاد آلوداینیا می‌شود.

همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد هرچند پیوند سلول‌های شوان در داخل نخاع آسیب دیده حیوان به طور چشم‌گیری موجب بهبود عملکرد حرکتی می‌شود ولی آن سبب ایجاد درد نامطلوبی بنام آلوداینیا می‌گردد.

به طور خلاصه یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که پیوند سلول‌های شوان در نخاع آسیب دیده یک روش درمانی موثری بوده و ضروری است در مطالعات سلول درمانی آینده برای درمان ضایعات نخاعی از این سلول‌ها استفاده شود و این که هرچند پیوند این سلول‌ها موجب بهبود حرکتی در حیوان می‌شود از طرف دیگر موجب افزایش آلوداینیای مکانیکی می‌گردد لذا مطالعات سلول درمانی آینده باید به دنبال یافتن روش‌هایی برای کاستن آلوداینیا در حیواناتی شود که برای درمان آن‌ها از پیوند سلول‌های شوان استفاده می‌شود. محققان روش‌های مختلفی را برای کاستن آلوداینیا گزارش کرده‌اند که عبارتند از: پیوند سلول‌های GABAergic (۱۷) - تجویز آگونیست‌های رسپتورهای GABA (۲۲) - پیوند سلول‌هایی که سروتونین و کاته‌کولامین‌ها و اوبیوئیدها را ترشح می‌کنند نظیر سلول‌های کرومافینی بخش مدولای غده آدرنال (۲۳) - استفاده از meloxicam - مهار کننده

¹ withdrawal threshold

آلوداینیا می‌شود و ضروری است مطالعات آینده سلول درمانی شامل یافتن روش‌هایی باشد که بتواند آلوداینیا را کاهش دهد.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر از حمایت مالی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی تهران برخوردار شده است. پروسه برش‌های انجمادی این مطالعه در بخش آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است لذا در اینجا لازم میدانیم از زحمات همکاران در این مراکز صمیمانه سپاسگزاری کنیم.

References:

1. Peter AC Lim, Adela M Tow. Recovery and regeneration after spinal cord injury: a review and summary of recent literature. *Ann Acad Med Singapore* 2007; 36:49-57.
2. Christensen MD, Hulsebosch CE. Chronic central pain after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1997; 14:517-37.
3. Nicholson B, Verma S. Comorbidities in chronic neuropathic pain. *Pain Med* 2004; 5(suppl 1) S9-S27.
4. Cairns DM, Adkins RH, Scott MD. Pain and depression in acute traumatic spinal cord injury: origins of chronic problematic pain? *Arch Phys Med Rehab* 1996; 77:329-35.
5. Mayer DJ, Price DD, Becker DP. Neurophysiological characterization of the anterolateral spinal cord neurons contributing to pain perception in man. *Pain* 1975;1(1):51-8.
6. Wolf CJ. Pain: moving from symptom control toward mechanism specific pharmacologic management. *Ann Intern Med* 2004; 140: 441-51.
7. Baba H, Ji R-R, Kohno T. Removal of GABAergic inhibition facilitates polysynaptic A fiber-mediated excitatory transmission to the superficial spinal dorsal horn. *Mol Cell Neurosci* 2003; 24: 818-30.
8. Cao QL, Zhanng YP, Howard RM, Walters WM. Pluripotent stem cells engrafted into the normal or

cyclooxygenase-2 (cox-2) (۲۴)- تجویز آدنوزین (۲۵) و لیدوکائین (۲۶) و استفاده از Minocycline که از فعال شدن سلول‌های گلیال (میکروگلیا و آستروگلیا) جلوگیری کرده و به دنبال آن مانع از بیان سیتوکین‌های پیش التهابی می‌شود (۲۷). مطالعه حاضر نشان داد که پیوند سلول‌های شوان به داخل نخاع آسیب دیده موش صحرایی موجب بهبود عملکرد حرکتی شده و از طرف دیگر سبب ایجاد درد نوروپاتیک ناخواسته‌ای به نام

- lesioned adult rat spinal cord are restricted to a glial lineage. *Exp Neurol* 2001; 167: 48-58.
9. Viomen M, Aigner L, Winkler J, Weidner N. Adult Neural progenitor cell grafts survive after acute spinal cord injury and integrate along axonal pathways. *Eur J Neurosci* 2003; 18: 743-51.
10. Lu P, Jones LL, Snyder EY, Tuszynski MH. Neural stem cells constitutively secrete neurotrophic factors and promote extensive host axonal growth after spinal cord injury. *Exp Neurol* 2003; 181: 115-29.
11. Hofstetter CP, Holmstrom NAV, Lilja JA, Schweinhardt P. Allodynia limits the usefulness of intraspinal neural stem cell grafts, directed differentiation improves outcome. *Nature Neurosci* 2005; 8(3): 346-53.
12. Morrissey TK, Kleitman N, Bunge RP. Isolation and functional characterization of Schwann cells derived from adult peripheral nerve. *J Neurosci* 1991; 11: 2433-42.
13. Keirstead HS, Morgan SV, Willby MJ, Fawcett JW. Enhanced axonal regeneration following combined demyelination plus schwann cell transplantation therapy in the injured adult spinal cord. *Exp Neurol* 1999; 159: 225-36.
14. Kim SM, Chang JW, Lee JH. The most appropriate antimitotic treatment of Ara-C in Schwann cell-

- enriched culture from dorsal root ganglia of new born rat. *J Kor Oral Maxillofac Surg* 2006; 32(1): 42-51.
15. Koga H, Shimaya M, Muneta T, Nimura A, Morito T, Hayashi M et al. Local adherent technique for transplanting mesenchymal stem cells as a potential treatment of cartilage defect. *Arthritis Res Ther* 2008; 10: R 84.
16. Pitcher GM, Richie J, Henry JL. Paw withdrawal threshold in the von Frey Hair Test is influenced by the surface on which the rat stands. *J Neurosci Methods* 1999; 87:185-93.
17. Macias M.Y, Syring M.B, Pizzi MA, Crowe MJ, Alexanian AR. Pain with no gain: Allodynia following neural stem cell transplantation in spinal cord injury. *Exp Neurol* 2006; 201:335-48.
18. Seung K.B, Jaehee L, Seung K.H, Heung S.N. Loss of spinal μ -opioid receptor is associated with mechanical Allodynia in a rat model of peripheral neuropathy. *Pain* 2006; 123:117-26.
19. Mukhida K, Mendez I, Mcleod M, Kobayashi N, Haughn C. Spinal GABAergic transplants attenuate mechanical Allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Stem cells* 2007; 25: 2874-85.
20. Ledeboer A, Sloane EM, Milligan ED, Frank MG, Mahony JH. Minocycline attenuates mechanical Allodynia and proinflammatory cytokine expression in rat models of pain facilitation. *Pain* 2005; 115:71-83.
21. Macias MY, Syring MB, Pizzi MA, Crowe MJ, Alexanian AR. Pain with no gain: Allodynia following neural stem cell transplantation in spinal cord injury. *Exp Neurol* 2006; 201:335-48.
22. Gwak YS, Tan HY, Nam TS. Activation of spinal GABA receptors attenuates chronic central neuropathic pain after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2006; 23: 1111-24.
23. Hains BC, Chastain KM, Everhart AW, McAdoo DJ, Hulsebosch CE. Transplantation of adrenal medullary chromaffin cells reduces forelimb and hindlimb Allodynia in a rodent model of chronic central pain after spinal cord hemisection injury. *Exp Neurol* 2000; 164:426-37.
24. Takahashi M, Kawaguchi M, Shimada K, Nakashima T, Furuya H. Systemic Meloxicam reduces tactile allodynia development after L5 single spinal nerve injury in rats. *Region Anesth Pain Med* 2005; 30(4): 351-5.
25. Eisenach JC, Rauck RL, Curry R. Intrathecal but no intravenous adenosine reduces allodynia in patients with neuropathic pain. *Pain* 2003; 105: 65-70.
26. Tian J, Gu Y, Su D, Wu Y, Wang X. Effects of Intrathecal lidocaine on hyperalgesia and allodynia following chronic contusion injury in rats. *Eur J Pain* 2009; 13: 130-7.
27. Ledeboer A, Sloane EM, Milligan ED, Frank MG, Mahony JH, Maier SF et al. Minocycline attenuates mechanical allodynia and proinflammatory cytokine expression in rat models of pain. *Pain* 2005; 115: 71-83.